

**WIRKUNG VON ALPHA- UND BETA-
SYMPATHOMIMETIKA UND IHRE BEEINFLUSSUNG
DURCH ALPHA- UND BETA-SYMPATHOLYTIKA
AM ISOLIERTEN UTERUS
DER MIT ÖSTROGEN VORBEHANDELTEN RATTE**

Christine Hornung

1975

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Manfred Kiese

WIRKUNG VON ALPHA- UND BETA-SYMPATHOMIMETIKA
UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH ALPHA- UND BETA-SYMPATHOLYTIKA
AM ISOLIERTEN UTERUS DER MIT ÖSTROGEN VORBEHANDELTEN RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München vorgelegt

von

Christine Hornung
aus München

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Felix

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. M. Kiese

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5.8.1975



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A) Einleitung	2
B) Methodik	3
1. Narkose	3
2. Operation	4
3. Vorbehandlung	4
4. Präparation	5
5. Apparatur, Badflüssigkeit	5
6. Versuchsablauf	6
7. Statistische Auswertung	7
8. Graphische Darstellung	7
9. Pharmaka	8
C) Ergebnisse	9
I. Beta-Blockade mit Propranolol	9
1. Mit Isoprenalin	10
2. Mit Adrenalin	11
3. Mit Noradrenalin	13
4. Mit Buphenin	14
II. Beta-Blockade mit Pindolol	16
III. Alpha-Blockade mit Azapetin	22
D) Diskussion	27
I. Sympathomimetika	27
II. Blockade durch Beta-Blocker	28
III. Blockade durch Azapetin	30
E) Zusammenfassung	33
F) Literatur	34

A) E I N L E I T U N G

Muskel- und Drüsengewebe, das von Adrenalin und verwandten Katecholaminen beeinflusst werden kann, muß adrenerge Rezeptoren besitzen. Sie werden als spezifische molekulare Reaktionspartner betrachtet, mit welchen die Pharmaka eine chemische Verbindung eingehen und dadurch erst wirksam werden (s. Kuschinsky).

Auf Ahlquists Einteilung in alpha-adrenerge und beta-adrenerge Rezeptoren - sie ergab sich in seiner grundlegenden Studie von 1948 aus der unterschiedlichen Reaktivität gegenüber einer bestimmten Reihenfolge von Katecholaminen - bauten sich alle weiteren Forschungen auf.

Ahlquist postulierte für die Gebärmutter der Säugetiere die Existenz beider Rezeptorarten. Den Zweifel vieler Autoren, ob dies auch für den Rattenuterus Gültigkeit besitzt, dokumentieren sehr unterschiedliche Ergebnisse.

In Fortführung der Untersuchungen Obländers sollte in der vorliegenden Arbeit am isolierten Uterusgewebe der Ratte durch die Methode der gleichzeitigen Erregung und Blockierung durch jeweils charakteristische Substanzen das Rezeptorenmuster untersucht werden.

Da sich der Funktionszustand des Myometriums durch das Zusammenspiel von Östrogen und Gestagen ständig ändert, brachten wir unsere Versuchstiere durch Ovariectomie mit nachfolgender Hormonbehandlung in eine genau bekannte, wenn auch künstliche Phase des Östruszyklus. Dabei waren die Uterusreaktionen auf adrenerge Substanzen unter dem Einfluß der Östrogendominanz (d.h. Östrogenvorbehandlung) von besonderem Interesse.

Da Östrogene das Membranpotential senken, muß die Sensibilität gegenüber pharmakologischen Stoffen erhöht sein. Wir untersuchten also den depolarisierten Rattenuterus.

B) M E T H O D I K

Junge weibliche Albinoratten (Sprague-Dawley), deren am Versuchstage ermitteltes Gewicht zwischen 150 g und 280 g schwankte, wurden kastriert und nach achttägiger Hormonbehandlung getötet. Die entnommenen Uterussegmente bewahrten in Tyrodelösung - einem dem physiologischen verwandten Ionenmilieu - ihre Kontraktionsfähigkeit. Die Wirkung verschiedener Sympathomimetika und ihrer Antagonisten auf die Kontraktionen wurden von einem Direktschreiber graphisch protokolliert und später von uns statistisch ausgewertet.

1. Narkose

Als Mittel der Wahl gilt die Barbituratnarkose. Auch bei Uterusuntersuchungen beim lebenden Tier konnte kein Einfluß der Barbiturate auf Uterusmotilität wie auf Pharmakawirkung festgestellt werden (Hawkins). Bei unseren Versuchen wurde in der Regel die Dosis von 4 mg/100 g Körpergewicht Nembutal-Injektionslösung (0,05 g/ml) intraperitoneal gespritzt.

Ein sicheres Anzeichen für tiefe Narkose war die Seitenlage, die das Tier meist wenige Minuten nach Injektion einnahm. Auffallend viele Tiere starben in den Monaten November, Dezember sofort nach Injektion trotz Dosisminderung, Adrenalininjektion und Herzmassage. In diesem Zeitraum reagierten auch die isolierten Organe schwächer auf Pharmaka. Da sich unsere Bedingungen nicht geändert hatten, betrachteten wir dies als besondere Eigenschaft der zu dieser Zeit gelieferten Züchtung.

2. Operation

Die Instrumente wurden nur mit Merfen desinfiziert (s. Farris, Griffith 1962). Kein Tier starb an Infektion.

Die Eierstöcke wurden vom Rücken her aufgesucht. Die einzelnen Schritte der Ovariectomie seien kurz zusammengefaßt.

1. Schnitt in Mittellinie der rasierten Rückenhaut.

Auf beiden Seiten:

2. Fascienpräparation

3. Durchtrennung der Muskelplatte seitlich der Wirbelsäule

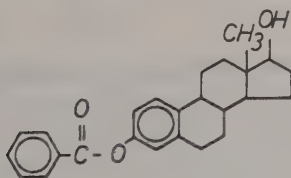
4. Aufsuchen des brombeerartigen Ovars

5. Zwei Ligaturen vor Abtrennung vom Uterusschlauch

6. Nähte und zusätzlicher Wundverband mit Nobecutan-Spray.

3. Vorbehandlung

Nach einwöchiger Erholungspause wurde den Tieren acht Tage lang 5 µg Östradiolbenzoat pro Tag subkutan unter die Rücken-
haut injiziert. Progynon B oleosum (Schering) enthielt 5 mg/ml
in öligem Lösung. Es wurde mit Sesamöl verdünnt.



Östradiol-
benzoat

Die meisten Autoren verstehen unter Östrogenvorbehandlung nur eine einmalige Stilböstrolinjektion. Im Vergleich zu unvorbehandelten Tieren erschienen die Uterusschläuche nach Östrogenvorbehandlung stark aufgequollen und sehr gut durchblutet.

4. Präparation

Einen Tag nach der letzten Hormoninjektion wurde das Tier durch Genickschlag getötet. Sofort danach wurde die Bauchhöhle geöffnet und der Uterus aus der mesenterialen Aufhängung abpräpariert. Beide Schläuche wurden in der Mitte durchtrennt. An die Enden der vier Segmente wurden Fäden zur Aufhängung im Organbad geknüpft. Ständige Tyrodebeträufelung sofort nach Bauchhöhleneröffnung sowie äußerst schonende Präparation ohne zerrende Handgriffe waren Voraussetzung.

5. Apparatur, Badflüssigkeit

Die Apparatur erlaubte gleichzeitig an vier Organsegmenten, die aus dem Uterus eines Versuchstieres genommen wurden, Versuche durchzuführen. Zur Messung der isotonen Kontraktionen wurde der Organstreifen an einem Ende starr, an dem anderen mit einem beweglichen, gleichmäßig vorbelasteten Hebel verbunden. Jedes Organbad enthielt 20 ml Tyrodelösung.

Angaben in %:

NaCl	0,8	KCl	0,02
CaCl ₂	0,02	MgCl ₂	0,02
NaHCO ₃	0,1	NaH ₂ PO ₄	0,005

Die Tyrodelösung wurde von einem Carbogengasgemisch (95% O₂ und 5% CO₂) zur Stabilisierung des pH durchperlt. Da es sich um Säugetiergewebe handelt, wurden die Versuche unter Überwachung eines Thermostaten bei Körpertemperatur (38°) durchgeführt.

Die Sensibilität der Organe gegenüber Pharmaka ändert sich erheblich bei Temperaturschwankungen, sogar innerhalb eines Grades (s. Hawkins). In diesem Zusammenhang sei auf die Beobachtungen von Bonney und Ferguson (1950) hingewiesen, daß bei einer Temperatur von 33° die Reaktivität des Uterus maximal sei, auch stabiler gegenüber Temperaturschwankungen als bei Körpertemperatur.

Die Hebelauslenkungen wurden elektromechanisch durch einen Photowiderstand umgewandelt, mit Gleichstrombrückengemessen und mit einem Direktschreiber aufgezeichnet.

Die zu testenden Pharmaka wurden mit einer 1,0-ml-Einmalspritze in die obere Öffnung der Organbäder gespritzt. Höchst bemessene Zugabemenge: insgesamt 1,0 ml.

6. Versuchsablauf

Die Präparationen zeigten nach Östrogenvorbehandlung keine Spontanaktivität - abgesehen von vereinzelt, schnell ermüdenden Aktionen kurz nach dem Eintauchen in die Badflüssigkeit. Dieser "ruhende" Uterus mußte durch Oxytocingaben stimuliert werden. Die erhaltenen Kontraktionen galten als Ausgangswerte. Man nimmt mit Sicherheit an, daß eine Substanz, welche die durch Oxytocin stimulierten Kontraktionen unterdrückt, auch die spontanen Kontraktionen hemmt. Überdies ist für Versuchszwecke ein pharmakologisch stimulierter Uterus vorteilhafter, da die unberechenbare Spontanaktivität die Beurteilung der Pharmakawirkung erschwert (Hawkins). In jedes Organbad gaben wir 1/100 I.E. Oxytocin. Kurz nach Zugabe bildeten sich rhythmische Kontraktionen aus. Höhere Dosen bewirkten eine Dauerkontraktur.

Um eine mögliche Blockade feststellen zu können, sollten zur Kontrolle jeweils zwei Organstreifen nur unter dem Einfluß der Sympathomimetika kontrahieren. Deshalb wurde nach Stabilisierung der Oxytocinaktionen in nur zwei Organbäder das Sympatolytikum (der Blocker) zugefügt. Nach einer gewissen Einwirkungszeit wurde dann in alle Bäder gleichzeitig das Sympathomimetikum (der Erreger) in steigender Konzentration gespritzt. Leider konnte ein Gewebe nicht zu mehreren Versuchsreihen verwendet werden. Nach Spülen der Bäder kontrahierten die Organe trotz erneuter Stimulierung nur schwach und unregelmäßig.

7. Statistische Auswertung

Bei einem Papiervorschub von 3,75 ml/min wurden die jeweils einer bestimmten Dosis zugeordneten Aktionen auf einer Strecke von 25 mm (das entspricht einem Zeitraum von 6,6 min) gemessen und Mittelwerte gebildet. Diese Mittelwerte wurden auf den Ausgangswert bezogen - von einem Computer gemittelt - und die erregende oder hemmende Wirkung in $\Delta\%$ berechnet. Bei den Versuchen mit Vorgabe des Sympatholytikums galten nicht die Oxytocinaktionen, sondern die vom Blocker beeinflussten Kontraktionen als Ausgangswerte. Zusätzlich wurde der Standarderror berücksichtigt.

8. Graphische Darstellung

Jeweils die Wirkung der adrenerg erregenden Substanz allein, sowie in Kombination mit dem Blocker auf Amplitude und Frequenz der Ausgangskontraktionen sollte in Abhängigkeit von der Dosis zeichnerisch dargestellt werden.

In der Graphik bedeuten:

Abszisse = Konzentration in logarithmischem Maßstab,
angegeben in M/l

Ordinate = Änderung von Amplitude oder Frequenz
in % des Ausgangswertes ($\Delta\%$)

Die durchgezogenen Linien stellen Amplitude und Frequenz der Kontrollgruppe (Vorgabe des Sympathomimetikums allein in steigender Konzentration) dar. Die unterbrochenen Linien bedeuten Amplitude und Frequenz der Testgruppe (Vorgabe des Sympatholytikums und des Sympathomimetikums - letzteres auch in steigender Konzentration).

Verliefen die Kurven beider Gruppen nahe beisammen, so wurde der Standarderror der Testgruppe geringfügig parallel verschoben vom errechneten Wert eingezeichnet.

9. Pharmaka

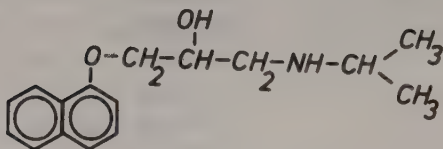
Folgende Präparate wurden benutzt:

Freiname	Handelsname
Östradiolbenzoat	Progynon B oleosum
Oxytocin	Syntocinon
Adrenalin	Suprarenin (1 : 1000)
Noradrenalin	Arterenol (1 : 1000)
Isoprenalin	Aludrin
Buphenin	Dilatol
Propranolol	Dociton
Azapetin	Ilidar
Pindolol	Visken

C) E R G E B N I S S E

I. Wirkung der Sympathomimetika Adrenalin, Noradrenalin, Isoprenalin und Buphenin nach Vorgabe des Beta-Blockers Propranolol

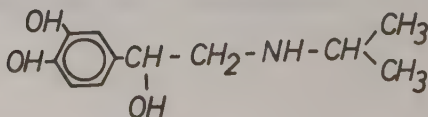
Propranolol



Bei allen Versuchen wurde Propranolol in einer Konzentration von 2×10^{-5} M/l vorgegeben. Im Mittel waren eine Amplitudenabnahme von 5% und eine Frequenzabnahme von 25% zu beobachten. Vor jedem Versuch wurden alle Pharmaka mit physiologischer Kochsalzlösung frisch angesetzt. Isoprenalin, Adrenalin und Noradrenalin wurden mit Ascorbinsäure (0,1%) stabilisiert. Es sei bemerkt, daß ab Mitte November 1974 die Uterussegmente eine verminderte Sensibilität gegenüber den Katecholaminen zeigten. Im Vergleich zur Versuchsreihe mit Azapetin (Frühherbst 74) mußten bei den Versuchen mit Propranolol und Pindolol für die gleiche Wirkung höhere Konzentrationen vorgegeben werden. Ein methodischer Fehler war nicht zu erkennen.

1. Propranolol --- Isoprenalin (18 Versuche)

Isoprenalin



Niedrigste zugegebene Konzentration von Isoprenalin 10^{-12} M/l
Höchste " " " " 10^{-7} M/l

Kontrollgruppe (nur Isoprenalinvorgabe):

Ausgeprägte Hemmung sowohl von Amplitude wie auch von Frequenz. Kurz nach Zugabe setzten die Aktionen oft schockartig für wenige Minuten aus. Dann erst konnten wieder gehemmte Kontraktionen beobachtet werden.

Testgruppe (mit Propranololvorgabe):

Die starke kontraktionshemmende Wirkung von Isoprenalin wurde deutlich durch Propranolol beeinflusst. Bei einer Konzentration von 10^{-8} M/l Isoprenalin verringerte sich die Amplitude der Kontrollkurve um 70%, die der Testkurve nur um 7% des Ausgangswertes.

Der Grundtonus nahm bei beiden Gruppen gleichmäßig ab.

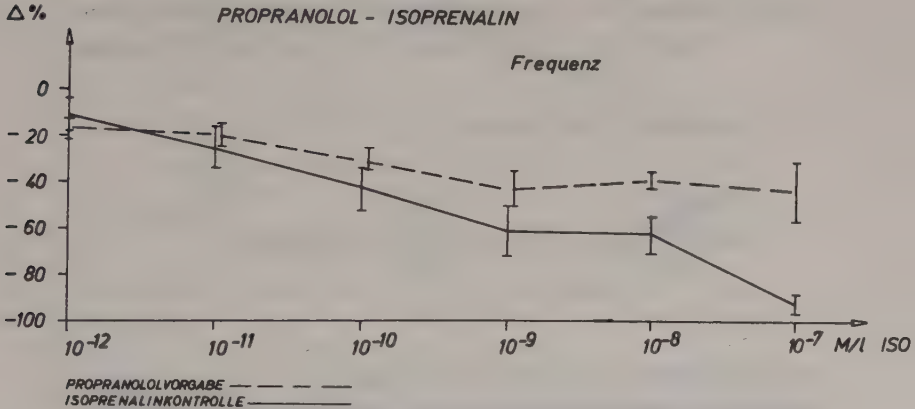


Abb.1: Wirkung von Isoprenalin ohne und mit Vorgabe von Propranolol auf die Frequenz des Uterusstreifens

Abb.1: Wirkung von Isoprenalin ohne und mit Vorgabe von Propranolol auf die Frequenz des Uterusstreifens

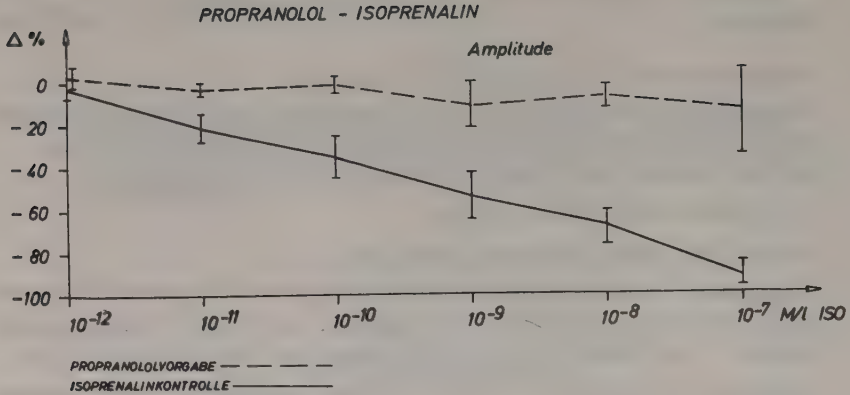
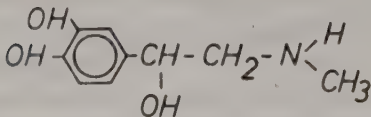


Abb.2: Wirkung von Isoprenalin ohne und mit Vorgabe von Propranolol auf die Amplitude des Uterusstreifens

2. Propranolol - Adrenalin (18 Versuche)



Adrenalin

Kontrollgruppe (nur Adrenalinvorgabe):

Bei einer Konzentration von 10^{-6} M/l wurde die Hemmung durch Adrenalin erst deutlich. Bei 2×10^{-5} M/l wurden die Aktionen fast völlig unterdrückt.

Testgruppe (mit Propranololvorgabe):

Eine Hemmung der Adrenalinwirkung durch Propranolol zeichnete sich klar ab, wenn auch etwas schwächer als bei Isoprenalin. Die Amplitude wurde dabei stärker als die Frequenz gehemmt.

Bei 2×10^{-5} M/l hatte sich bei der Testgruppe die Amplitude um 33%, bei der Kontrollgruppe um 83% verringert.

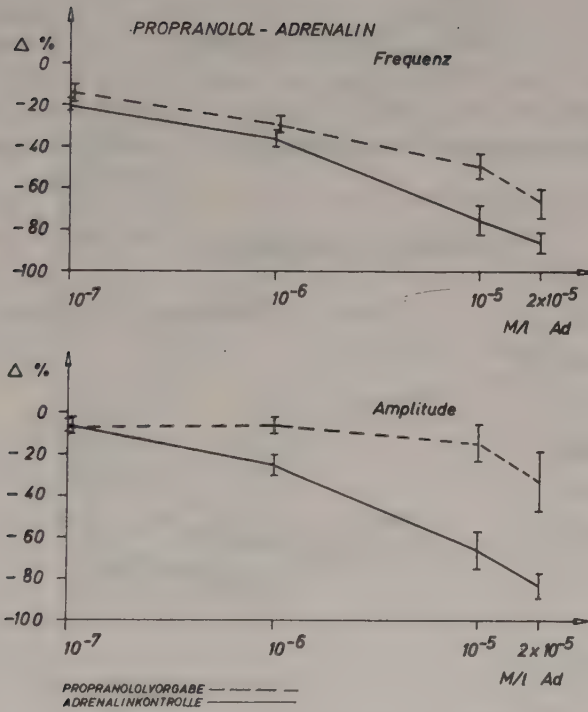
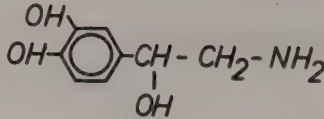


Abb.3: Wirkung von Adrenalin ohne und mit Vorgabe von Propranolol auf Amplitude und Frequenz

3. Propranolol - Noradrenalin (12 Versuche)



Noradrenalin

Niedrigste zugegebene Konzentration 10^{-6} M/l Noradrenalin
 Höchste " " 3×10^{-5} M/l "

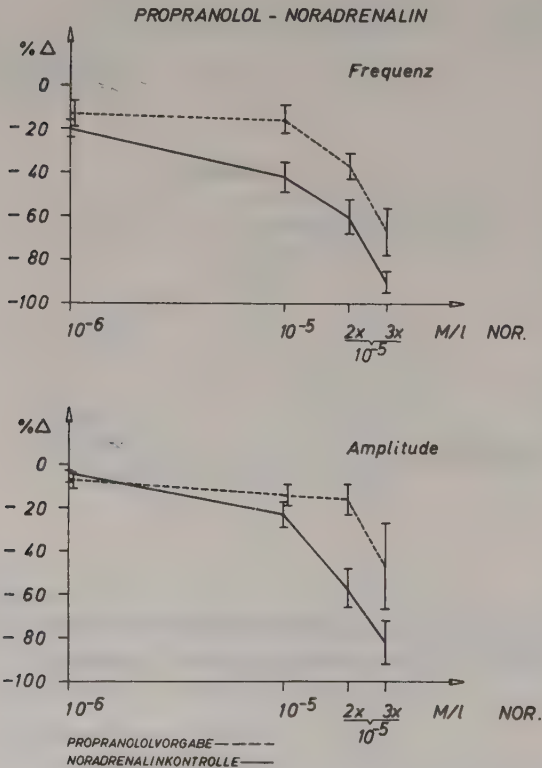


Abb.4: Wirkung von Noradrenalin ohne und mit Vorgabe von Propranolol auf Frequenz und Amplitude

Kontrollgruppe (nur Noradrenalinzugabe):

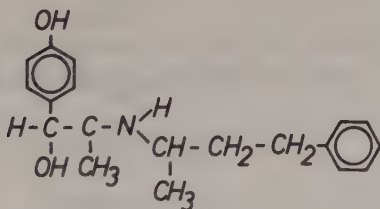
Bei 10^{-5} zeigte sich schon eine ausgeprägte Frequenzhemmung, die bei 3×10^{-5} 90% betrug.

Testgruppe. (mit Propranololvorgabe):

Die erschlaffende Wirkung von Noradrenalin wurde schwächer als bei Isoprenalin und Adrenalin durch den Beta-Blocker gehemmt; die Hemmung war ausgeprägter bei der Amplitude.

Bei einer Dosis von 2×10^{-5} betrug die Amplitudenhemmung bei der Testkurve 16%, bei der Kontrollkurve 57%.

4. Propranolol -- Buphenin (22 Versuche)



Buphenin

Niedrigste zugegebene Konzentration	10^{-6} M/l Buphenin
Höchste " "	4×10^{-5} M/l "

In diesen Konzentrationen hemmte Buphenin Amplitude und Frequenz der Kontraktionen. Bei steigender Bupheninkonzentration waren auch nach Propranololvorgabe eine Verlängerung der Konzentrationsdauer und eine Tonuserhöhung zu beobachten. Eine schwach erregende Wirkung begann sich vereinzelt ab 3×10^{-5} M/l abzuzeichnen. Die Organe von Test- und Kontrollgruppen reagierten jedoch sehr unterschiedlich nach Bupheningaben.

Testkurven und Kontrollkurven, die nur über Frequenz und Amplitude aussagen, weichen in ihrem Verlauf nur geringfügig voneinander ab, so daß eine gerade noch erkennbare Hemmung festzustellen ist.

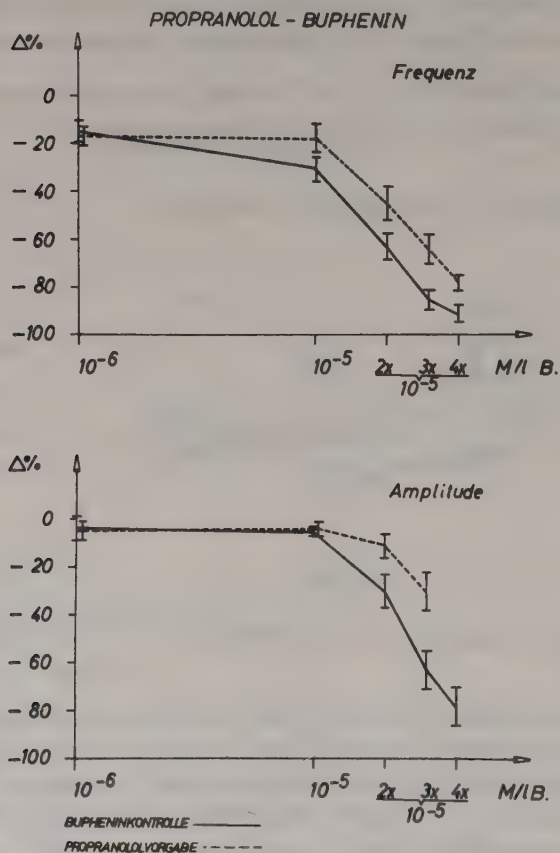
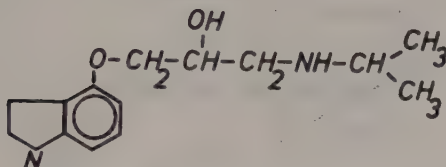


Abb.5: Wirkung von Buphenin ohne und mit Vorgabe von Propranolol auf Frequenz und Amplitude

II. Wirkung der Sympathomimetika Adrenalin, Noradrenalin, Isoprenalin und Buphenin nach Vorgabe des Beta-Blockers Pindolol



Pindolol

Nach Vorgabe von 2×10^{-5} M/l Pindolol verminderte sich die Frequenz um 21% des Ausgangswertes (Oxytocinkontraktionen). Die Amplitude veränderte sich im Mittel nicht.

1. Pindolol---Isoprenalin (16 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration	10^{-11} M/l Isoprenalin
Höchste " " "	10^{-8} M/l "

Bei allen Versuchen wurde die Isoprenalinwirkung deutlich durch Pindolol blockiert (Frequenz stärker als Amplitude). Vergleichspunkte bei einer Dosis von 10^{-9} M/l Isoprenalin:

Kontrollgruppe:

Amplitudenabnahme 73%, Frequenzabnahme 65%.

Testgruppe:

Amplitudenabnahme nur 37%, Frequenzabnahme nur 9%.

Der Tonus nahm bei beiden Gruppen gleichmäßig ab.

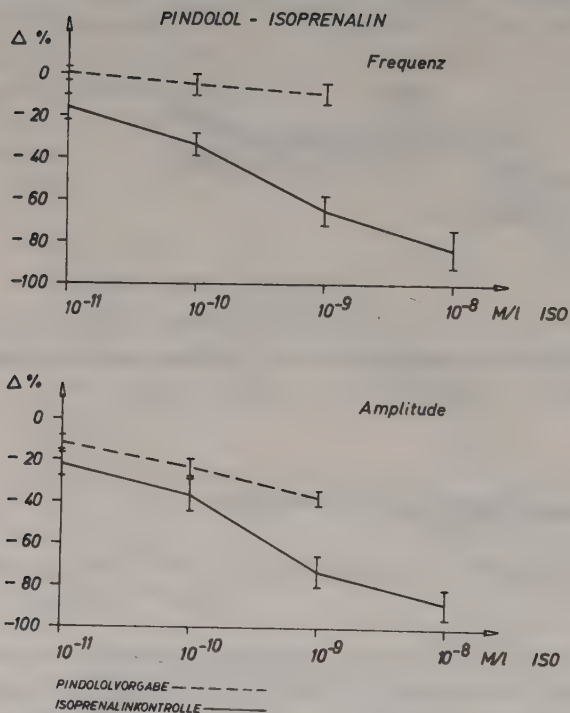


Abb.6: Wirkung von Isoprenalin ohne und mit Vorgabe von Pindolol auf Frequenz und Amplitude
 Bei 10^{-8} M/l war bei der Testgruppe die Zahl der Versuche nicht ausreichend für eine statistische Auswertung

2. Pindolol - Adrenalin (20 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration	10^{-7} M/l Adrenalin
Höchste " "	10^{-5} M/l "

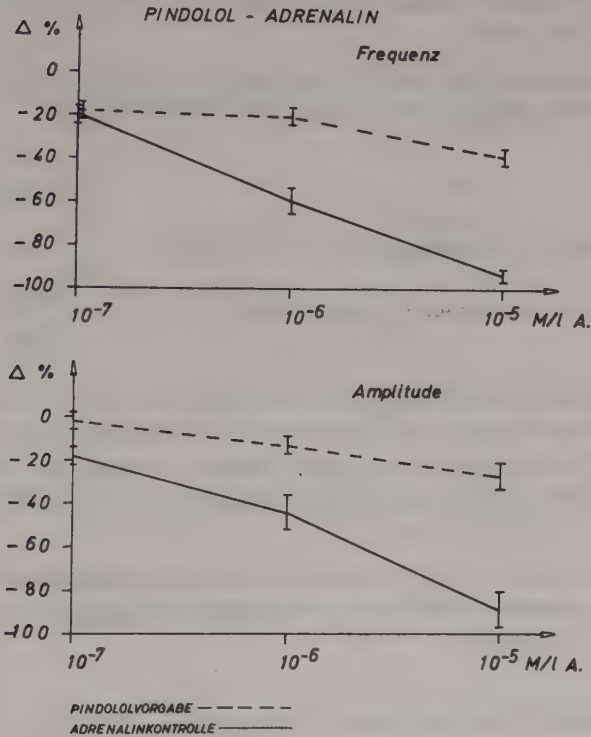


Abb.7: Wirkung von Adrenalin ohne und mit Vorgabe von Pindolol auf Frequenz und Amplitude

Bei der Kontrollgruppe wurden je nach Sensibilität der Organe die Kontraktionen schon bei 10^{-7} oder erst bei 10^{-5} M/l unterdrückt. Pindolol hemmte die Adrenalinwirkung deutlich (die Frequenz stärker als die Amplitude). Bei einer Konzentration von 10^{-5} M/l nahm bei der Kontrollgruppe die Amplitude um 88%, die Frequenz um 94% des Ausgangswertes ab. Bei der Testgruppe betrug die Amplitudenabnahme nur 27%, die Frequenzabnahme nur 38%.

Dies bedeutet, daß Pindolol um mehr als die Hälfte die erschlaffende Wirkung von Adrenalin blockiert hat.

3. Pindolol - Noradrenalin (21 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration	10^{-6} M/l Noradrenalin
Höchste " "	3×10^{-5} M/l "

Bei der Kontrollgruppe wurde erst bei 10^{-5} M/l eine Hemmung der Kontraktionen durch Noradrenalin deutlich. Der Wirkungseintritt erfolgte sofort nach Zugabe. Frequenz und Amplitude verringerten sich im gleichen Ausmaß: bei 10^{-5} M/l etwa um 50%.

Wieder konnte eine blockierende Wirkung durch Pindolol beobachtet werden. Sie betrug etwa 40%, war also etwas schwächer als bei Adrenalin.

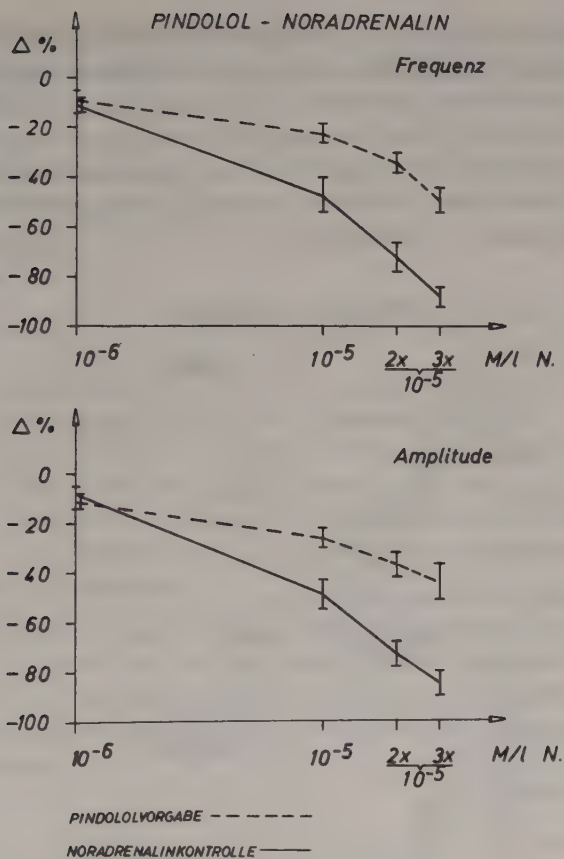


Abb.8: Wirkung von Noradrenalin ohne und mit Vorgabe von Pindolol auf Frequenz und Amplitude

4. Pindolol - Buphenin (24 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration	10^{-5} M/l Buphenin	
Höchste	"	4×10^{-5} M/l "

Die Reaktion der Organe auf Buphenin war bei beiden Gruppen uneinheitlich. Eine Hemmung der Bupheninwirkung durch Pindolol ließ sich zwar meist erkennen, aber es kam auch vor, daß die Kontraktionen bei beiden Gruppen gleichzeitig erlahmten oder gar die Testgruppe (mit Pindolol) eher erschlaffte. Statistisch gemittelt ergab sich eine sehr schwache Hemmung der Bupheninwirkung durch den Beta-Blocker.

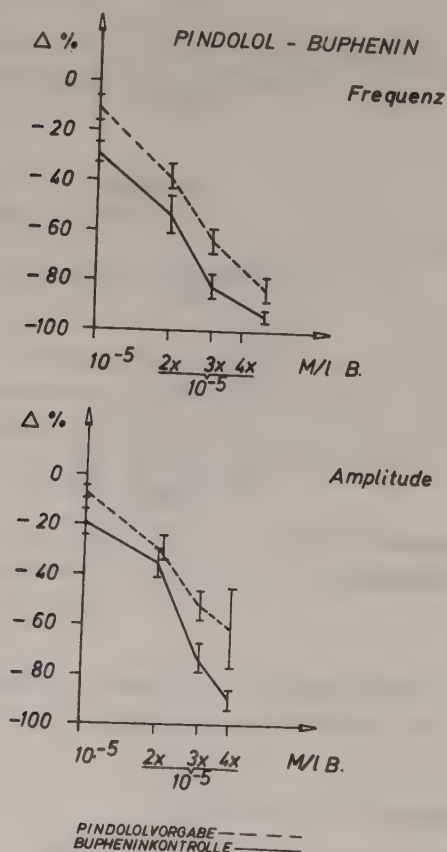
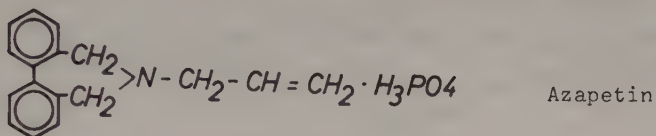


Abb.9: Wirkung von Buphenin ohne und mit Vorgabe von Pindolol auf Frequenz und Amplitude

III. Wirkung der Sympathomimetika Adrenalin, Noradrenalin, Isoprenalin und Buphenin nach Vorgabe des Alpha-Blockers Azapetin



Bei einer Vorgabe von 4×10^{-5} M/l Azapetin nahm die Amplitude um 17%, die Frequenz um 24% des Ausgangswertes ab. Die Kontraktionsdauer nahm bei allen Versuchen nach Azapetineinwirkung stark zu, der Gipfel der Amplitude stellte meist ein Plateau dar. Der Grundtonus stieg bei einigen Versuchen unter Azapetinwirkung an, senkte sich jedoch wieder bei weiterer Zugabe des Sympathomimetikums.

Die Azapetinversuchsreihe wurde im Frühherbst 74 durchgeführt. Wie schon erwähnt, war im Gegensatz zu den Versuchen mit den Beta-Blockern bei schon verhältnismäßig niedrigen Konzentrationen der Katecholamine eine deutliche Reaktion der isolierten Organe festzustellen.

1. Azapetin - Isoprenalin (10 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration	10^{-12} M/l Isoprenalin
Höchste " " "	10^{-8} M/l "

Die immer wieder beobachtete starke Erschlaffung der Ratten-gebärmutter durch Isoprenalin wurde durch Azapetin stark blockiert. Bei 10^{-10} M/l ergab sich eine Hemmung der Isoprenalinwirkung durch Azapetin von etwa 60%.

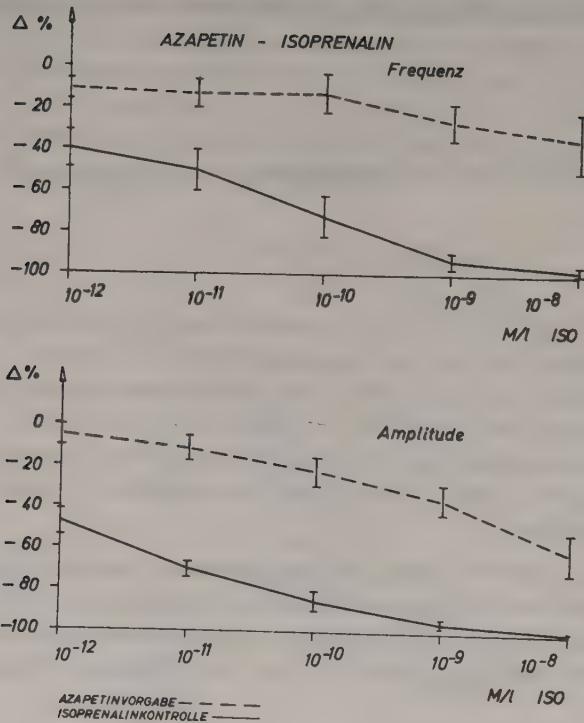


Abb.10: Wirkung von Isoprenalin ohne und mit Vorgabe von Azapetin auf Frequenz und Amplitude

2. Azapetin - Adrenalin (13 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration	10^{-8} M/l Adrenalin
Höchste " "	10^{-6} M/l Adrenalin

Schon bei 10^{-7} M/l nahmen Amplituden- und Frequenzkurven beider Gruppen einen voneinander abweichenden Verlauf, der eine deutliche Blockade der Adrenalinwirkung durch Azapetin ausdrückte. Bei 10^{-6} M/l verringerten sich Amplitude und Frequenz der Kontrollgruppe etwa um 90%, die der Testgruppe nur um 60%.

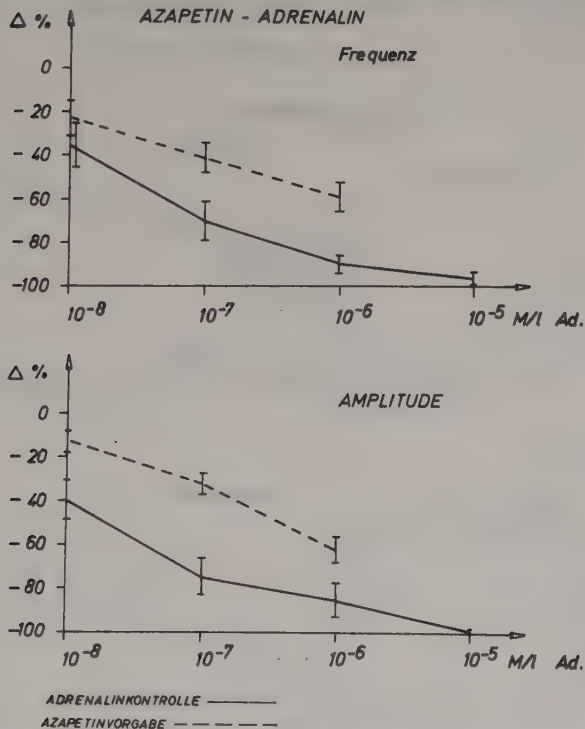


Abb.11: Wirkung von Adrenalin ohne und mit Vorgabe von Azapetin auf Frequenz und Amplitude
Bei 10^{-5} M/l war bei der Testgruppe die Zahl der Versuch nicht ausreichend für eine statistische Auswertung

3. Azapetin -- Noradrenalin (12 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration 10^{-8} M/l Noradrenalin
Höchste " " " 10^{-5} M/l "

Die kontraktionshemmende Wirkung von Noradrenalin wurde erst bei einer Konzentration von 10^{-6} M/l deutlich. Eine Blockade durch Azapetin zeichnete sich deutlich ab. Bei 10^{-6} M/l betrug Frequenz- und Amplitudenabnahme der Kontrollgruppe 70%, die der Testgruppe jedoch nur 35%. Bei beiden Gruppen wurden die Aktionen gleichzeitig bei einer Dosis von 10^{-5} Noradrenalin unterdrückt.

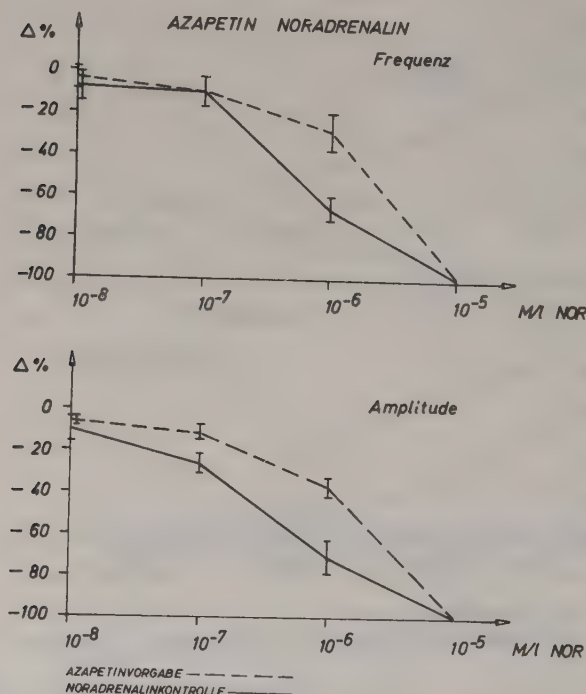


Abb.12: Wirkung von Noradrenalin ohne und mit Vorgabe von Azapetin auf Frequenz und Amplitude

4. Azapetin - Buphenin (12 Versuche)

Niedrigste zugegebene Konzentration 10^{-6} M/l Buphenin
 Höchste " " 3×10^{-5} M/l "

Das Kontraktionsmuster der Testgruppe unterschied sich von dem der Kontrollgruppe durch die deutliche Verlängerung der Kontraktionsdauer nach Azapetingabe. Jedoch wurden Amplitude und Frequenz der beta-adrenergen Substanz Buphenin durch den Alpha-Blocker Azapetin nicht deutlich gehemmt.

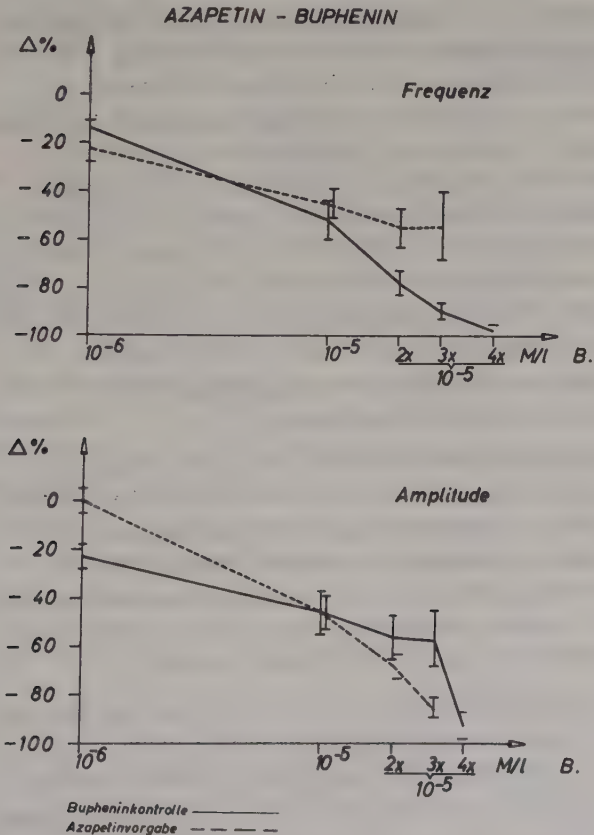


Abb.13: Wirkung von Buphenin ohne und mit Vorgabe von Azapetin auf Frequenz und Amplitude

D) DISKUSSION

I. Sympathomimetika

Uteruserregung bedeutet das Zusammentreffen von Adrenalin mit alpha-adrenergen Rezeptoren - Hemmung der Motilität tritt ein, wenn sich Adrenalin mit beta-adrenergen Rezeptoren verbindet. Der zu beobachtende Effekt gibt dann Aufschluß über das Rezeptorenmuster im jeweiligen Uterusgewebe.

In unseren Versuchen erwiesen sich Isoprenalin, Adrenalin und Noradrenalin als eindeutig kontraktionshemmend auf die Motilität des Rattenuterus. Das Beta-Sympathomimetikum Isoprenalin wirkte am stärksten, Adrenalin (Alpha- und Beta-Erreger) wiederum stärker als Noradrenalin (vornehmlich Alpha-Erreger). Diese Ergebnisse werden in der Literatur oft beschrieben (Ahlquist, Brody und Diamond, Levy und Tozzi, Hudzik und Miller, Tothill, Schild) und als Beweise für die Dominanz von Beta-Rezeptoren im Rattenuterus gewertet. Greefe bestätigt auch die inhibitorische Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin am infantilen wie graviden Rattenuterus, entdeckte aber, daß der Rattenuterus zum Zeitpunkt der Geburt mit Noradrenalin erregt werden konnte.

Eine exzitatorische Adrenalinwirkung, wie sie Bonney und Ferguson vereinzelt bei Ratten im Östrus entdeckten (Phase der Ovulation, die durch Erhöhung des Östrogenspiegels hervorgerufen wird), konnte bei unseren ausschließlich mit Östrogen vorbehandelten Tieren nicht beobachtet werden. Miller schreibt diesen gegensätzlichen Adrenalineffekt der starken Tonusminderung zu, die im Östrus besteht.

Die Bupheninwirkung ist gesondert zu betrachten. In seiner Eigenschaft als Beta-Sympathomimetikum müßte Buphenin wie Isoprenalin am stärksten die Kontraktionen hemmen, sollte die Uteruserschlaffung erfolgen. (wie die oben beschriebenen Ergebnisse vermuten lassen). In den Konzentrationen

von 10^{-6} M/l bis 4×10^{-5} M/l hemmte Buphenin zwar Amplitude und Frequenz, der Tonus senkte sich aber nur gering. Vereinzelt konnte sogar eine stimulierende Wirkung, die sich auch in der Verlängerung der Kontraktionsdauer zeigte, beobachtet werden. Buphenin wird zusätzlich eine alpha-blockierende Wirkung zugeschrieben. (Ludwig und Wiemers 1951).

Zweifelhaft erscheint es, ob man die unerwartete Bupheninwirkung durch die Existenz von Alpha-Rezeptoren in der Gebärmutter der Ratte erklären kann.

Ein weiterer Schritt zur Rezeptordifferenzierung ist die Blockade mit genau definierten Rezeptorantagonisten.

II. Blockade durch Beta-Blocker

Ariens weist auf die große Ähnlichkeit der Beta-Blocker mit dem Beta-Sympathomimetikum Isoprenalin hin. Außer der N-Alkyl-Gruppe erweist sich die OH-Gruppe in der Seitenkette als essentiell. Mit der Eliminierung dieser OH-Gruppe schwindet weitgehend die beta-stimulierende Wirkung der Katecholamine sowie die beta-blockierende Wirkung der Sympatholytika.

Die Beta-Blocker Propranolol und Pindolol wirkten in einer Konzentration 2×10^{-5} M/l gering hemmend auf Amplitude und Frequenz. Dieses Ergebnis läßt sich nicht durch ihre beta-blockierenden Eigenschaften erklären.

Postuliert man für den Rattenuterus wirklich nur Beta-Rezeptoren, dann muß man bei beiden Substanzen eher das Gegenteil - eine erregende Wirkung - erwarten.

In unseren Versuchen konnte die erschlaffende Wirkung der Sympathomimetika in der Reihenfolge Isoprenalin, Adrenalin, Noradrenalin und Buphenin durch Vorgabe von Beta-Blockern gehemmt werden. Propranolol zeigte an den isolierten Organen eine etwas stärker blockierende Wirkung als Pindolol. Am deutlichsten wurde die Blockade bei der Kombination Propranolol-Isoprenalin.

Levy und Tozzi beschreiben, daß in ihren Versuchen die Sympathomimetika durch alle Verbindungen, die ein beta-blockierende Komponente enthielten, blockiert wurden. Zyklusstadium, hormonelle Vorbehandlung, Schwangerschaft oder auch Rattenart hatten keinen Einfluß auf deren Ergebnisse. Sie bewerten die Tatsache, daß Adrenalin, ein Alpha- und Beta-Erreger, durch einen reinen Beta-Blocker gehemmt werden kann, als einen weiteren Beweis, daß der Rattenuterus nur einen Rezeptortyp, einen Beta-Rezeptor, besitzt.

Da man annimmt, daß alle Sympathomimetika bis zu einem gewissen Grad Alpha- und Beta-Rezeptoren erregen (siehe Ariens), liegt in der Hemmung der Uteruskontraktionen durch Noradrenalin (früher sah man es als reines Alpha-Sympathomimetikum an) und folglich auch in einer Blockade der Noradrenalinwirkung durch einen Beta-Blocker kein Widerspruch.

Nach Ahlquist (1962) entscheidet nicht das erregende Amin, sondern der Rezeptor über die Antwort des Organismus. Sollte also der Rattenuterus nur Beta-Rezeptoren besitzen, so könnte eine adrenerge Stimulation nur Erschlaffung hervorrufen, die auch durch Beta-Blocker gehemmt werden könnte.

Unsere Ergebnisse mit den Sympatholytika Propranolol und Pindolol weisen mit Sicherheit auf die Existenz von Beta-Rezeptoren hin. Inhibitorische Alpha-Rezeptoren scheinen nicht ausgeschlossen, wenn man berücksichtigt, daß man selbst bei der starken Hemmung der Isoprenalinwirkung durch Propranolol nicht von einer totalen Blockade sprechen kann. Mit steigender Konzentration des Agonisten verminderten sich auch bei Vorgabe des Blockers Amplitude und Frequenz, wenn auch erheblich geringer als bei der Kontrollgruppe.

Im Gegensatz zu Diamond und Brody konnten wir nicht beobachten, daß Adrenalin und Noradrenalin in Gegenwart von Propranolol auf das mit Östrogenen vorbehandelte Uterusgewebe stimulierend wirkten. Das Ergebnis dieser beiden Autoren würde auf exzitatorische Alpha-Rezeptoren hinweisen.

III. Blockade durch den Alpha-Blocker Azapetin

Anders als die Beta-Blocker, deren große Ähnlichkeit mit dem Beta-Stimulans Isoprenalin auffällt, weist das Dibenzazepinderivat Azapetin keine Ähnlichkeit mit dem Alpha-Stimulans Noradrenalin auf.

Azapetin wirkte in unseren Versuchen auf die Kontraktionen des isolierten Organs erregend. Zwar dämpfte es in einer Dosis von 4×10^{-5} M/l Amplitude und Frequenz, jedoch nahm die Kontraktionsdauer deutlich zu. In einigen Versuchen erhöhte Azapetin auch den Tonus. Dieses Ergebnis - eine stimulierende Wirkung des Alpha-Blockers Azapetin - wäre mit der Vorstellung von erregenden Alpha-Rezeptoren im Rattenuterus unvereinbar. Würde man dem Myometrium nach vorangegangenen Überlegungen nur Beta-Rezeptoren zuordnen, dann müßte eigentlich eine alpha-blockierende Substanz wirkungslos sein. Ebenfalls wäre nach einer Blockade der Alpha-Rezeptoren eine Verstärkung der sympathomimetischen Wirkung zu erwarten.

Überraschend wurde in unseren Untersuchungen die kontraktionshemmende Wirkung von Isoprenalin, Adrenalin und Noradrenalin durch Azapetin blockiert.

In der Literatur finden sich dazu unterschiedliche Ergebnisse. Levy und Tozzi konnten in keinem Fall - unabhängig vom Hormonspiegel - die Wirkung adrenerger Substanzen am Rattenuterus durch Alpha-Blocker hemmen. Miller wiederum konnte bei ausschließlich mit Östrogenen vorbehandelten Ratten die Adrenalinwirkung mit dem Alpha-Blocker Phentolamin unterdrücken. Jensen und Vennerød gelang eine Blockade mit dem Alpha-Blocker Tolazolin (allerdings betonten sie die stimulierende Eigenwirkung dieser Substanz).

In unserem Fall könnte man die Hemmung der Adrenalin- und Noradrenalinwirkung wie Miller mit der Existenz von inhibitorischen Alpha-Rezeptoren erklären. Diese Vorstellung wird problematisch, bedenkt man, daß auch Isoprenalin, ein typisches Beta-Stimulans, von dem Alpha-Sympatholytikum Azapetin blockiert

wurde. Dieses unerwartete Ergebnis kann man nur dann erklären, wenn man die Hemmung der Isoprenalinwirkung einer starken stimulierenden Eigenwirkung des Azapetins zuschreibt. Dafür spricht auch die oben erwähnte deutliche Verlängerung der Kontraktionsdauer durch Azapetin.

Auch Randall und Smith weisen auf die stimulierende Wirkung von Azapetin in einer Konzentration von 10^{-5} M/l hin. In ihren Versuchen konnten die hemmenden Effekte des Adrenalins auf isolierte Organe jedoch nicht durch Azapetin blockiert werden.

Die beiden Beta-Stimulantien Isoprenalin und Buphenin waren wieder nicht vergleichbar. Die Bupheninwirkung wurde nicht deutlich durch Azapetin gehemmt.

Levy und Tozzi schlossen in ihren Untersuchungen jeden hormonellen Einfluß auf die Wirkung der adrenergen Pharmaka aus.

Brody und Diamond wie Tothill konnten unter dem Aspekt der Östrogendominanz erregende Alpha-Rezeptoren im Myometrium der Ratte experimentell nachweisen. Brody und Diamond konnten, wie schon vorher erwähnt, die stimulierende Wirkung von Adrenalin in Gegenwart von Beta-Blockern wiederum mit Alpha-Blockern hemmen. Tothill gelang bei Östrogenvorbehandelten Ratten eine Adrenalinumkehr unter dem Einfluß von Isoprenalin (bei Progesteronvorbehandlung war dies nicht der Fall).

Tothill folgerte aus diesem Ergebnis, daß die Alpha-Rezeptoren im Rattenuterus keine anatomischen Gegebenheiten sind, sondern eine nahe Verwandtschaft zu Enzymen besitzen, die durch Östrogene induziert werden.

In der vorliegenden Arbeit konnten nach Östrogenvorbehandlung keine erregenden Alpha-Rezeptoren demaskiert werden.

Die widersprüchlichen Ergebnisse vieler Autoren machen deutlich, daß die Rezeptoren in der Gebärmutter der Ratte wahrscheinlich nicht mit Rezeptoren in anderen Geweben vergleichbar sind.

Miller (1967) nimmt sogar an, daß nur ein hemmender Rezeptortyp im Rattenuterus existiert, der Eigenschaften sowohl eines Beta-Rezeptors als auch eines Alpha-Rezeptors besitzt.

Auch unsere Ergebnisse - dies gilt insbesondere für die Blockade mit Azapetin und für die unerwartete Bupheninwirkung - lassen sich am besten verstehen, wenn man sich bei Untersuchungen der Rattengebärmutter von der starren Einteilung in alpha- und beta-adrenerge Rezeptoren löst.

E) Z U S A M M E N F A S S U N G

Unter dem besonderen Gesichtspunkt der Östrogenvorbehandlung, sollte der Einfluß von Alpha- und Beta-Blockern auf die Wirkung der Sympathomimetika Adrenalin, Noradrenalin, Isoprenalin und Buphenin am isolierten Uterusgewebe der Ratte untersucht werden. Die Ergebnisse sollten Aufschluß über das Rezeptorenmuster geben. Kastration und nachfolgende Hormonbehandlung brachten die Versuchstiere in einen untereinander vergleichbaren hormonellen Status. Die Sympathomimetika hemmten in der Reihenfolge Isoprenalin, Adrenalin, Noradrenalin und Buphenin die durch Oxytocin hervorgerufenen Ausgangskontraktionen. Diese erschlaffende Wirkung wurde durch Vorgabe der Beta-Blocker Propranolol und Pindolol gehemmt. Das stützt die Auffassung, daß der Rattenuterus vornehmlich Beta-Rezeptoren enthält.

Die Blockade der sympathomimetischen Wirkung durch den Alpha-Blocker Azapetin war kein sicherer Beweis für die Existenz von inhibitorischen Alpha-Rezeptoren. Möglicherweise überlagerte eine erregende Eigenwirkung dieses Alpha-Blockers den Einfluß auf die Rezeptoren.

Buphenin reagierte in keinem der Versuche als typisches Beta-Sympathomimetikum.

Erregende Alpha-Rezeptoren wurden nach Östrogenvorbehandlung nicht aufgedeckt.

Nach unseren Untersuchungen ist es wahrscheinlich, daß der Gebärmutter der Ratte ein eigenständiger Rezeptor zugeordnet werden muß, der überwiegend Merkmale eines Beta-Rezeptors, aber auch die eines Alpha-Rezeptors besitzt.

F) L I T E R A T U R

1. Ahlquist, R.P. A study of adrenotropic receptors
Am.J.Physiol. 153, 586 (1948)
2. Ahlquist, R.P. The adrenotropic Receptordetector
Arch.int.Pharmacodyn. 139, 38 (1962)
3. Ariens, E.J. Wirkung und Wirkungsmechanismus von
Katecholaminen und ihren Derivaten
Arch.exp.Path.Pharmacol.
257, 118 (1967)
4. Bonney, W.R., Reaction of isolated uterine muscle
Ferguson, J.K. of rats and guinea pigs
Arch.int.Pharmacodyn. 83, 566 (1950)
5. Brody, Th.M., Blockade of the biochemical
Diamond, J. correlates of contraction and
relaxation in uterine and intestinal
smooth muscle
Ann.N.Y.Acad.Sci. 139, 772 (1967)
6. Farris, E.J., The rat in laboratory investigation
Griffith, J.Q. Hafner Publishing Company, New York,
1962
7. Greef, K., Holtz, P. Über die Uteruswirkung des
Adrenalins und Arterenols
Ein Beitrag zum Problem der
Uterusinnervation
Arch.int.Pharmacodyn. 88, 228 (1951)
8. Hawkins, D.F. Agents Acting on the Uterus
In: Laurence Bacharach,
Evaluation of Drug Activities:
Pharmacometrics 2

9. Jensen, B.K. Reversal of the Inhibitory Action
 Vennerød, A.M. of Adrenalin and Histamin
 on the Rat Uterus
 Acta pharmacol.et toxicol. 18, 307 (1961)
10. Kuschinsky/Lüllmann Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
 Thieme Verlag, Stuttgart, 1972
11. Levy, B. Alterations of adrenergic responses
 by N-Isopropylmethoxamine
 J.Pharmacol.exp.Ther. 146, 129 (1964)
12. Levy, B., Analysis of adrenergic blocking
 Ahlquist, R.P. activity
 J.Pharmacol. 133, 202 (1961)
13. Levy, B., Tozzi, S. The adrenergic receptive mechanism
 of the rat uterus
 J.Pharmacol.exp.Ther. 142, 178 (1963)
14. Ludwig, N., Über die adrenolytische Wirkung
 Wiemers, K. aralkylierter Adrenalin-Derivate
 an der Samenblase
 des Meerschweinchens
 Arch.exp.Path.Pharmacol. 214, 55 (1951)
15. Miller, J.W. Adrenergic receptors in the myometrium
 Ann.N.Y.Acad.Sci. 139, 788 (1967)
16. Obländer, M. Die adrenergen Rezeptoren des Ratten-
 uterus und ihre Beeinflussung durch
 weibliche Sexualhormone
 Diss. München 1974
17. Randall, L.O., The adrenergic blocking action
 Smith, Th.H. of some dibenzazepine derivatives
 J.Pharm.exp.Ther. 103, 10 (1951)
18. Rudzik, A.D., The mechanism of uterine inhibitory
 Miller, J.W. action of relaxin-containing ovarian
 extracts
 J.Pharmacol.exp.Ther. 138, 82 (1962)

19. Schild, H.O. The action of isoprenaline
in the depolarized rat uterus
Brit.J.Pharmacol. 31, 758 (1967)
20. Schlemmer, F. Dtsch.Arzneiprüfungsinstitut,
Tätigkeitsbericht für das Jahr 1961
Pharmaz.Ztg. 40, 1301 (1962)
21. Tothill, A. Motor effect of adrenaline
on the rat uterus
Nature (London) 213, 1230 (1967)

Die Versuche wurden im Pharmakologischen Institut der Universität München im Labor von Herrn Professor Dr. Wolfgang Felix in der Zeit vom Juli 1974 bis zum Januar 1975 durchgeführt.

Herrn Professor Dr. Felix danke ich sehr herzlich für die Stellung des Themas, die Hilfe bei der Bearbeitung und die freundliche Anteilnahme am Fortschreiten der Arbeit.

Den Mitarbeiterinnen im Labor, besonders Frau Heiderun Förster, danke ich für ihre bereitwillige Unterstützung und ihre guten Anregungen.

Lebenslauf

Am 26. August 1948 wurde ich in München als Tochter des Arztes und Zahnarztes Dr. Helmut Käufer und seiner Ehefrau Gertrud geb. Bichlmaier geboren. Nach dem Besuch der Volksschule in München trat ich 1958 in das Realgymnasium der Ursulinen in Lenggries ein. Ab 1961 besuchte ich das Realgymnasium in München-Pasing und schloß dort 1967 meine Schulausbildung mit der Reifeprüfung ab.

Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Sommersemester 68 an der Universität München und beendete es im Sommer 73 mit dem Staatsexamen.

Seit November 73 arbeite ich in der zahnärztlichen Praxis als Ausbildungsassistentin.

